

**Grzegorz Lis<sup>1</sup>, Ewa Kostyk<sup>2</sup>, Marek Sanak<sup>3</sup>, Jacek J. Pietrzyk<sup>1,2</sup>**

z <sup>1</sup>Kliniki Chorób Dzieci

Kierownik: prof. dr hab. med. Jacek J. Pietrzyk

<sup>2</sup> Zakładu Genetyki Medycznej

Kierownik: prof. dr hab. med. Jacek J. Pietrzyk

<sup>3</sup> Pracowni Biologii Molekularnej II Katedry Chorób Wewnętrznych

Kierownik: dr Marek Sanak

Collegium Medicum UJ, Kraków

## **BADANIA MOLEKULARNE W POPULACJI DZIECI CHORYCH NA ASTMĘ OSKRZELOWĄ. CZ. I. POLIMORFIZM REGIONU PROMOTOROWEGO GENU CD14.**

MOLECULAR STUDIES IN ASTHMATIC CHILDREN  
PART I. CD14 POLYMORPHISM IN ALLERGIC ASTHMA

**Summary:** Allergic asthma is associated with the recruitment of the inflammatory cells into the bronchial mucosa. Surface expression of CD14, a marker of activation and differentiation of macrophages/monocytes, was suggested to protect against Th-2 response. **Objective:** To investigate clinical effects of genetic polymorphism of CD14 promoter in asthmatic children. **Methods:** In ISAAC survey, 50 children with asthma were identified (wheezing in the last year, serum IgE level > 150 kIU/l, positive bronchial challenge test with aerolized hypertonic saline) and 73 children without the above signs. Age range of surveyed children was 13-14 years. Genotypic pattern of CD14 promoter –159 C to T transition was assessed by RFLP method. **Results:** There was no difference in the allelic (0.36 vs. 0.38 for –159T) or genotype frequencies (0.12 vs. 0.15 for –159TT) of CD14 polymorphism between allergic asthmatics and controls. Moreover, there was no relationship between CD14 genotype and serum IgE level or bronchial hyper-responsiveness. **Conclusion:** Our results do not confirm the association of CD14 polymorphism (promoter –159 C to T transition) with asthma in Polish children.

**Key words:** CD14 gene, asthma, polish children, atopy hyperresponsiveness

PNEUMONOL. ALERGOL. POL., 2001, 69, 5-6, 265-272

### **Wstęp**

Astma jest przewlekłym schorzeniem dróg oddechowych charakteryzującym się nawracającą obturacją oskrzeli, której zapalna etiologia związana jest z aktywacją takich komórek jak: mastocyty, eozynofile, limfocyty T, a także monocyty i makrofagi. Komórki te, w odpowiedzi na swoiste alergenów lub inne bodźce, uwalniają liczne mediatory prozapalne i uczestniczą w tworzeniu alergicznego nacieku zapalnego w drogach oddechowych.

Mechanizmy etiopatogenetyczne astmy od wielu lat są obiektem badań naukowych. Udział czynników genetycznych w patogenezie astmy jest udokumentowany badaniami epidemiologicznymi, ale ostateczna liczba genów-kandydatów odpowiedzialnych za rozwój tej choroby wciąż nie jest znana. Badanie markerów genetycznych w astmie oskrzelowej doprowadziło do ustalenia regionu q31-32 chromosomu 5, jako wykazującego znamienne sprzężenie z cechami atopii i nadreaktywności oskrzeli<sup>8,10</sup>. W regionie tym znajdują się geny kodujące

cytokiny (IL3, IL4, IL5, IL9, IL12B, IL13, GMCSF), receptory zaangażowane w regulację skurczu oskrzeli ( $\beta 2$  adrenoreceptor, receptor PAF, receptor glikokortykoidowy), a także receptor lipopolisacharydu (CD14).

CD14 jest błonową glikoproteiną (mCD14), pełniącą rolę receptora dla lipopolisacharydu (LPS) – endotoksyny będącej głównym składnikiem błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych<sup>17</sup>. CD14 jest obecna głównie na makrofagach i monocytach, ale występuje także we krwi w formie rozpuszczalnej (sCD14). Wzajemna interakcja LPS – CD14 może nasilać produkcję cytokin przez komórki jednojądrzaste<sup>3;11;16</sup>, a ponadto sam mCD14 w sposób pośredni bierze udział w metabolizmie fosfolipidów<sup>15</sup>.

U chorych na astmę oskrzelową opisywano zmiany w aktywności komórek CD14 dodatnich we krwi<sup>11</sup> i w popłuczynach oskrzelikowo-pecherzykowych<sup>5;13</sup>. Wykazano również zmiany ilościowe sCD14 u tych chorych<sup>14</sup>. Powyższe obserwacje sugerują udział CD14 jako istotnego układu sygnałowego w patomechanizmie miejscowej reakcji alergicznej w obrębie dróg oddechowych.

Baldini i wsp. analizowali polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP) regionu promotorowego genu CD14, polegający na tranzykcji cytozyny do tyminy w miejscu poprzedzającym o 159 nukleotydów start translacji ( $_{-159}C \rightarrow T$ ) u dzieci z atopią<sup>2</sup>. W badaniach tych stwierdzono asocjację allela  $_{-159}T$  z podwyższonym stężeniem sCD14 w surowicy krwi, obniżonym całkowitym poziomem IgE i zmniejszoną częstością dodatnich testów skórnych<sup>2</sup>. Autorzy sugerowali związek nosicielstwa allelu  $_{-159}T$  z predyspozycją do odpowiedzi odpornościowej z udziałem komórek  $Th_1$ , chroniącą przed rozwojem mechanizmów alergicznych związanych z astmą.

Sugerowana, na podstawie cytowanych prac, asocjacja genetyczna powinna powodować zmniejszoną częstość nosicielstwa allelu  $_{-159}T$  genu CD14 u dzieci chorych na astmę oskrzelową, w porównaniu do zdrowych rówieśników.

W ramach podjętych badań porównano częstości alleliczne i genotypowe SNP  $_{-159}C \rightarrow T$  regionu promotorowego genu CD14 wśród dzieci chorych na astmę, z grupą kontrolną. Celem badań była weryfikacja hipotezy zerowej ( $H_0$ ): rozkład polimorfizmu regionu promotorowego genu CD14 wśród dzieci chorych na astmę nie różni się znacząco od rozkładu obserwowanego w grupie dzieci zdrowych.

Badanie przeprowadzono w układzie przypadek-kontrola metodą prospektywną.

## Material

Grupę badaną dzieci chorych na astmę kwalifikowano w trybie dwuetapowym. W I etapie przeprowadzono badanie ankietowe, w etapie II – badanie kliniczne. Badania etapu I wykonano w stosując standardowy kwestionariusz ISAAC w okresie od maja do czerwca 1995<sup>1</sup>. Badaniem ankietowym objęto populację dzieci w wieku od 13 do 14 lat ( $n=2967$ ) uczęszczających do klas siódmych w 40 wylosowanych szkołach podstawowych miasta Krakowa.

Na podstawie badania klinicznego zakwalifikowano do badań genetycznych tych respondentów ( $n=50$ ), spośród 225 zaproszonych, którzy pozytywnie odpowiedzieli na pytania o występowanie objawów astmatycznych w ostatnim roku

lub zgłaszali fakt rozpoznania astmy przez lekarza. Na badania kliniczne wykonane w II etapie składały się: pomiar nieswoistej nadreaktywności oskrzeli (NNO), ocena wskaźników atopii (testy skórne z aeroalergenami – Prick testy, IgE całkowite, eozynofilia bezwzględna krwi obwodowej) oraz izolacja DNA genomowego. Kryteriami włączającymi dla grupy badanej były: dodatni wywiad w kierunku objawów astmatycznych w ostatnim roku lub fakt rozpoznania astmy przez lekarza oraz poziom IgE całkowitej w surowicy powyżej 150 kIU/l.

Grupą kontrolną (n=73) byli uczniowie, którzy ukończyli badania etapu II spośród 225 zaproszonych i wylosowanych z populacji respondentów, którzy negatywnie odpowiedzieli na ankietowe pytania odnośnie objawów astmy. Dla grupy kontrolnej kryteriami włączającym były: ujemny wywiad w kierunku objawów astmatycznych kiedykolwiek w przeszłości oraz poziom IgE całkowitej w surowicy nie przekraczający 150 kIU/l.

Przy kwalifikacji do grupy kontrolnej uwzględniono płeć i miejsce uczęszczania do szkoły dzieci z grupy badanej. Na podstawie analizy badania kwestionariuszowego nie wykazano istotnych różnic między dziećmi zgłaszającymi się a tymi, które nie zgłosiły się do dalszych badań. Charakterystykę grupy badanej i kontrolnej zestawiono w tabeli 1.

Badanie wykonano za zgodą Komisji Bioetycznej UJ i pisemną zgodą rodziców dzieci.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna badanych grup  
Table 1. Clinical characteristic of the studied groups

| Grupa<br>Group         | Liczebność | Wiek (lata)<br>Age (years)<br>X±SD | Płeć<br>m:k<br>Gender m:f | IgE<br>X±SEM | %FEV1<br>X±SEM | IxFEV1<br>X±SEM | Eoz<br>X±SEM |
|------------------------|------------|------------------------------------|---------------------------|--------------|----------------|-----------------|--------------|
| Badana<br>/ Studied    | 50         | 13,5±0,5                           | 33:17                     | 702,4±110,7  | 115,0±1,4      | 11,81±4,59      | 436,6±461    |
| Kontrolna<br>/ Control | 73         | 13,4±0,6                           | 47:26                     | 57,60±5,11   | 116,2±1,5      | 1,64±0,24       | 166,9±15,0   |

IgE: stężenia IgE w surowicy (kIU/l) / total IgE level (kIU/l)

%FEV<sub>1</sub>: procent wartości należnej FEV / FEV predicted

IxFEV<sub>1</sub>: pomiar nieswoistej nadreaktywności oskrzeli w teście inhalacyjnym z 4,5%NaCl / bronchial hyperresponsiveness in hypertonic saline inhalation test

Eoz: eozynofile\*mm<sup>-1</sup> w krwi obwodowej / peripheral blood eosinophils\*mm<sup>-1</sup>

## Metody

### *Genotypowanie SNP <sup>-159</sup>C→T genu CD14.*

Genomowe DNA izolowano z leukocytów krwi obwodowej przy użyciu standardowej metody <sup>7</sup>. Polimorfizm regionu promotorowego genu CD14 badano amplifikując jego fragment o długości 295 par zasad przy użyciu starterów: 5'-ATC ATC CTT TTC CCA CAC C i 5'-AAC TCT TCG GCT GCC TCT oraz warunków polimerazowej reakcji łańcuchowej opracowanych przez Unkelbacha i wsp. <sup>12</sup>. Produkt reakcji trawiono endonukleazą *Bsu*RI (izoschizomerem enzymu *Hae*III). Przy obecności allele <sup>-159</sup>C produktami restrykcji enzymatycznej były fragmenty DNA wielkości 155 i 141 par zasad, przy obecności allele

<sup>159</sup>T produkt wielkości 296 par zasad nie ulegał cięciu enzymatycznemu. Produkty trawienia restrykcyjnego, po wybarwieniu fluorescencyjnym (YOYO3, Molecular Probes) rozdzielano elektroforetycznie w żelu poliakrylimidowym stosując zautomatyzowany system elektroforezy (AlfExpress, Pharmacia). Na podstawie obecności specyficznych, dla alleli CD14, produktów trawienia określono genotypy i wyliczono częstości alleliczne grupy badanej i kontrolnej.

#### ***Badanie nieswoistej nadreaktywności oskrzeli.***

Nieswoistą nadreaktywność oskrzeli (NNO) oceniano w teście inhalacyjnym z 4,5% NaCl z wyznaczeniem wskaźnika NNO – IxFEV<sub>1</sub>. Test inhalacyjny i wyliczenia wskaźnika przeprowadzono zgodnie z uprzednio opublikowanym protokołem <sup>6</sup>. Jako kryterium rozpoznania NNO przyjęto jego wartość powyżej 95 centyla wyznaczonego dla populacji dzieci zdrowych <sup>6</sup>.

Eozynofilię bezwzględna, i stężenie IgE w surowicy krwi obwodowej wyznaczono za pomocą standardowych metod laboratoryjnych.

Testy skórne wykonano z następującymi aeroalergenami: *D. pteronyssinus* (ALK Soluprick, Dania) oraz sierści psa, kota, pyłków traw, chwastów (Biomed, Polska) metodą Prick oceniając średnią średnicę bąbla. Za wynik pozytywny przyjęto jej wartość powyżej 3mm.

#### ***Metody statystyczne***

Oceniono zgodność obserwowanych częstości genotypu CD14 z wartościami oczekiwanymi, na podstawie równowagi genetycznej i wyliczonymi z częstości allelicznych przy użyciu równania Hardy'ego-Weinberga. Porównania międzygrupowe częstości genotypu CD14 przeprowadzono testem  $\chi^2$ , uwzględniając poprawkę Yatesa. Wpływ genotypu CD14 na poziom IgE w surowicy zbadano analizą wariancji, po normalizacji stężenia IgE transformacją logarytmiczną.

#### **Wyniki**

Obserwowane częstości genotypu CD14 nie różniły się od wartości oczekiwanych w żadnej z grup (gr. badana  $\chi^2=0,087$ ,  $p>0,5$  i kontrolna  $\chi^2=0,017$ ,  $p>0,5$ ). (tab. II)

Nie stwierdzono różnic w częstościach genotypu CD14 między grupą badaną a kontrolną ( $\chi^2=0,042$ ,  $p>0,5$ ). Brak różnic dotyczył także częstości allele <sup>159</sup>T ( $\chi^2=0,141$ ,  $p>0,5$ ) i częstości homozygot TT ( $\chi^2=0,235$ ,  $p>0,5$ ).

Przeprowadzono również dodatkowe analizy, w których przyjęto obecność pojedynczej cechy klinicznej (NNO lub wynik testów alergicznych) jako kryterium podziału na grupy. Nie wykazano różnic w częstościach genotypu CD14 między grupami (tab. III i IV). Analiza wariancji stężenia IgE w surowicy nie wykazała różnic dla poszczególnych klas genotypowych w grupie dzieci badanych i kontrolnej (tab. V).

## Badania molekularne w populacji dzieci chorych na astmę

Tab. II. Rozkład genotypu CD14 w grupach  
Tab. II. Distribution of CD14 genotypes in the groups

| Genotyp / Genotype                             | Grupa badana<br>Studied group<br>(n=50) | Grupa kontrolna<br>Controls<br>(n=73) |
|--|---|---------------------------------------|
| CC   | 20                                      | 28                                    |
| CT   | 24                                      | 34                                    |
| TT   | 6                                       | 11                                    |
| Częstość allelu T: / Allele T frequency:       | 0,36                                    | 0,38                                  |
| Częstość genotypu TT: / Genotype TT frequency: | 0,12                                    | 0,15                                  |

Tab. III. Rozkład genotypu CD14 w grupach  
Tab. III. Distribution of CD14 genotypes in the groups

| Genotyp / Genotype     | Grupa: NNO (+)<br>Group: NNO(+) (n=27) | Grupa: NNO (-)<br>Group: NNO(-) (n=92) |
|------------------------|--|--|
| CC                     | 11                                     | 35                                     |
| CT                     | 12                                     | 44                                     |
| TT                     | 4                                      | 13                                     |
| Częstość allelu T:     |  |  |
| Allele T frequency:    | 0,37                                   | 0,38                                   |
| Częstość genotypu TT:  |  |  |
| Genotype TT frequency: | 0,15                                   | 0,14                                   |

n- liczebność

NNO: nadreaktywność oskrzeli

NNO: bronchial hyperresponsiveness

Tab. IV. Rozkład genotypu CD14 w grupach  
Tab. IV. Distribution of CD14 genotypes in the groups

| Genotyp / Genotype        | Grupa: testy<br>alergiczne (+)<br>Group:<br>Prick test (+)<br>n=23 | Grupa: testy<br>alergiczne (-)<br>Group:<br>Prick test (-)<br>n=97 |
|---------------------------|--|--|
| CC                        | 10   | 37   |
| CT                        | 10   | 46   |
| TT                        | 3  | 14   |
| Częstość alleliczna (T):  |  |  |
| Allele frequency (T):     | 0,36   | 0,38   |
| Częstość genotypowa (TT): |  |  |
| Genotype frequency (TT):  | 0,12   | 0,15   |

Tab. V. Stężenie IgE całkowitej –  $\log_{10}$  /kIU/l/ w poszczególnych genotypach CD14 badanych dzieci  
 Tab. V. Total IgE level –  $\log_{10}$  /kIU/l/ by CD14 genotypes among studied children

| Genotyp (liczebność)         |                              |
|------------------------------|------------------------------|
| Genotype                     | $\log_{10}$ IgE (X $\pm$ SD) |
| CC (n=48)                    | 1,997 $\pm$ 0,740            |
| CT (n=58)                    | 2,081 $\pm$ 0,669            |
| TT (n=17)                    | 1,849 $\pm$ 0,876            |
| Wartość: F = 0,694 p = 0,501 |                              |

## Omowienie

Badanie predyspozycji genetycznej do astmy atopowej, wiodącej postaci astmy oskrzelowej u dzieci, w ciągu ostatnich lat stało się przedmiotem intensywnych badań i licznych doniesień naukowych. Dotychczasowe wyniki, jakkolwiek początkowo obiecujące, nie definiują jednak w sposób dostatecznie udokumentowany genów ani mechanizmów funkcjonalnych odpowiedzialnych za fenotypową ekspresję choroby.

W populacji amerykańskiej wykazano związek między poziomem IgE i częstością dodatnich testów skórnych z popularnymi alergenami a polimorfizmem regionu promotorowego genu CD14<sup>2,4</sup>. Co więcej, ustalono przypuszczalne mechanizmy molekularne, mające polegać na silniejszej odpowiedzi odpornościowej u homozygot  $_{-159}$ TT na wszechobecne lipopolisacharydy bakteryjne, mierzonej np. stężeniem interferonu- $\gamma$ , co miałoby zapobiegać rozwojowi atopii i astmy u dzieci<sup>9</sup>.

Obserwacje te znalazły potwierdzenie w pracy Gao i wsp.<sup>4</sup> wykazującej korelację między genotypem CD14 a poziomem IgE całkowitej w surowicy dzieci brytyjskich. Stężenie IgE całkowitej było znacząco niższe w populacji dzieci, u których występował allel  $_{-159}$ T. Na tej podstawie autorzy cytowanej pracy uznali glikoproteinę CD14 za jeden z głównych czynników regulujących stężenie IgE w surowicy krwi.

Częstość występowania allela  $_{-159}$ T u dzieci polskich wynosiła 0,36 w grupie badanej i 0,38 w grupie kontrolnej. Nie różni się ona od częstości stwierdzonej w populacji niemieckiej (zdrowi – 0,38, n=46; chorzy na niewydolność wieńcowa 0,47; n=2228)<sup>12</sup>. Badania polimorfizmu typu SNP  $_{-159}$ C $\rightarrow$ T genu CD14 przeprowadzone wśród polskich dzieci chorujących na astmę nie potwierdzają obserwacji autorów amerykańskich i brytyjskich. W materiale własnym nie stwierdzono zależności między nosicielstwem allela  $_{-159}$ T a występowaniem astmy u dzieci. Ponadto, nie wykazano zmienionych częstości nosicielstwa tego allela u dzieci z objawami atopii definiowanymi przy pomocy różnych parametrów, takich jak poziom IgE, dodatnie testy skórne, czy też nieswoista nadreaktywność oskrzeli. Polimorfizm genu dla CD14 nie wpływa zatem na dojrzewanie odpowiedzi odpornościowej u dzieci, badanych w kierunku atopii w wieku szkolnym, zgodnie z proponowaną hipotezą „higieniczną” choroby. Nie można jednak wykluczyć wpływu tego polimorfizmu na predyspozycję do atopii u dzieci małych, różnica spowodowana genotypem CD14 mogłaby zanikać z wiekiem. Mogłoby to wyjaśniać różnice w wynikach badań przeprowadzonych w grupie noworodków i niemowląt przez Baldiniego i wsp. oraz w wynikach badań w populacji dzieci szkolnych w Polsce uzyskanych przez autorów.

Mała powtarzalność badań nad asocjacjami genetycznymi jest już w nauce regułą, czego dowiodły liczne prace, w dziedzinie astmy dotyczące na przykład zmienności receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego, podjednostki  $\beta$  receptora IgE o dużym powinowactwie, czy podjednostki  $\alpha$  receptora interleukiny-4. Uzyskane przez nas wyniki mogą wskazywać na odmienną rolę wpływu środowiska na rozwój atopii i astmy w Polsce lub różnice populacyjne w częstościach innych genów mających wpływ na podatność na te choroby. Dowód na istnienie tych ostatnich przytacza również Baldini i wsp., którzy statystyczną znamienność swoich wyników uzyskali wyłącznie w grupie dzieci białych, nie mających pochodzenia hiszpańskiego. Wśród dodatkowych czynników nakazujących ostrożność w interpretacji wyników badań należy podkreślić różnice w liczebności grup badanych, a także różnice w częstościach występowania chorób alergicznych w różnych populacjach. Możliwe również, że badany SNP jest niefunkcjonalny, a obserwowane w Stanach Zjednoczonych i Wielkiej Brytanii asocjacje wynikają ze sprzężenia z allelem  $-159T$  innego, nie znanego jeszcze polimorfizmu genetycznego chroniącego przed astmą atopową.

## Wnioski

1. Brak znaczącej asocjacji genetycznej między nosicielstwem allele  $-159T$  genu CD14 a występowaniem astmy atopowej wśród dzieci polskich w wieku szkolnym sugeruje brak udziału tego genu w patomechanizmie tej choroby.
2. Dla pełnej weryfikacji hipotezy odnośnie roli CD14 w atopii konieczne byłoby przeprowadzenie analizy molekularnej pozostałych regionów genu celem identyfikacji innych polimorfizmów i/lub mutacji.

## Piśmiennictwo:

1. Asher, M. I. i wsp.: International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur.Respir.J.*, 1995, 8, 483-491.
2. Baldini, M. i wsp.: A Polymorphism\* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.*, 1999, 20, 976-983.
3. Dubin, W. i wsp.: Asthma and endotoxin: lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in bronchoalveolar compartment. *Am.J.Physiol.*, 1996, 270, L736-L744.
4. Gao, P. S. i wsp.: Serum total IgE levels and CD14 on chromosome 5q31 [letter]. *Clin.Genet.*, 1999, 56, 164-165.
5. Lensmar, C. i wsp.: Airway inflammation and altered alveolar macrophage phenotype pattern after repeated low-dose allergen exposure of atopic asthmatic subjects. *Clin.Exp.Allergy*, 1999, 29, 1632-1640.
6. Lis, G., Pietrzyk J.J.: Response-dose ratio as an index of bronchial responsiveness to hypertonic saline challenge in an epidemiological survey of asthma in Polish children. *Pediatr.Pulmonol.*, 1998, 25, 375-382.
7. Maniatis, T., Fritsch E. F., Sambrook J.: Molecular cloning, a laboratory manual Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
8. Marsh, D. G. i wsp.: Linkage analysis of IL-4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science*, 1994, 264, 1152-1156.
9. Moffatt, M. F., Cookson W.O: Genetics of asthma and inflammation: the status. *Curr.Opin.Immunol.*, 1999, 11, 606-609.
10. Postma, D. S. i wsp.: Genetic susceptibility to asthma—bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy.

- N.Engl.J.Med., 1995, 333, 894-900.
11. Rivier, A. i wsp.: Blood monocytes of untreated asthmatics exhibit some features of tissue macrophages. *Clin.Exp.Immunol.*, 1995, 100, 314-318.
  12. Unkelbach, K. i wsp.: A new promoter polymorphism in the gene of lipopolysaccharide receptor CD14 is associated with expired myocardial infarction in patients with low atherosclerotic risk profile. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*, 1999, 19, 932-938.
  13. Viksman, M. Y. i wsp.: Phenotypic analysis of alveolar macrophages and monocytes in allergic airway inflammation. I. Evidence for activation of alveolar macrophages, but not peripheral blood monocytes, in subjects with allergic rhinitis and asthma. *Am.J.Respir.Crit Care Med.*, 1997, 155, 858-863.
  14. Virchow, J. C. i wsp.: CD14 expression and soluble CD14 after segmental allergen provocation in atopic asthma. *Eur.Respir.J.*, 1998, 11, 317-323.
  15. Wang, P. Y., Munford R.S.: CD14-dependent internalization and metabolism of extracellular phosphatidylinositol by monocytes. *J.Biol.Chem.*, 1999, 274, 23235-23241.
  16. Wittmann, M. i wsp.: Suppression of interleukin-12 production by human monocytes after preincubation with lipopolysaccharide. *Blood*, 1999, 94, 1717-1726.
  17. Wright, S. D. i wsp.: CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 1990, 249, 1431-1433.

Wpłynęło: 1.12.2000r.

Adres: Klinika Chorób Dzieci Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii CM UJ, ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków